

Année 1969

THÈSE

N°

1203

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Geneviève MOUGEOT née VILMAIN

née le 12 Janvier 1943 à PARIS 17e

Attachée-Assistante au LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE
de la Faculté de Médecine St-Antoine - Paris

Présentée et soutenue publiquement le

LES REACTIONS IMMUNOLOGIQUES
DES
BILHARZIOSES

Président : M. Y.J. GOLVAN, Professeur

Année 1969

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Geneviève MOUGEOT née VILMAIN

née le 12 Janvier 1943 à PARIS 17e

Attachée-Assistante au LABORATOIRE DE PARASITOLOGIE
de la Faculté de Médecine St-Antoine - Paris

Présentée et soutenue publiquement le

LES REACTIONS IMMUNOLOGIQUES DES BILHARZIOSES

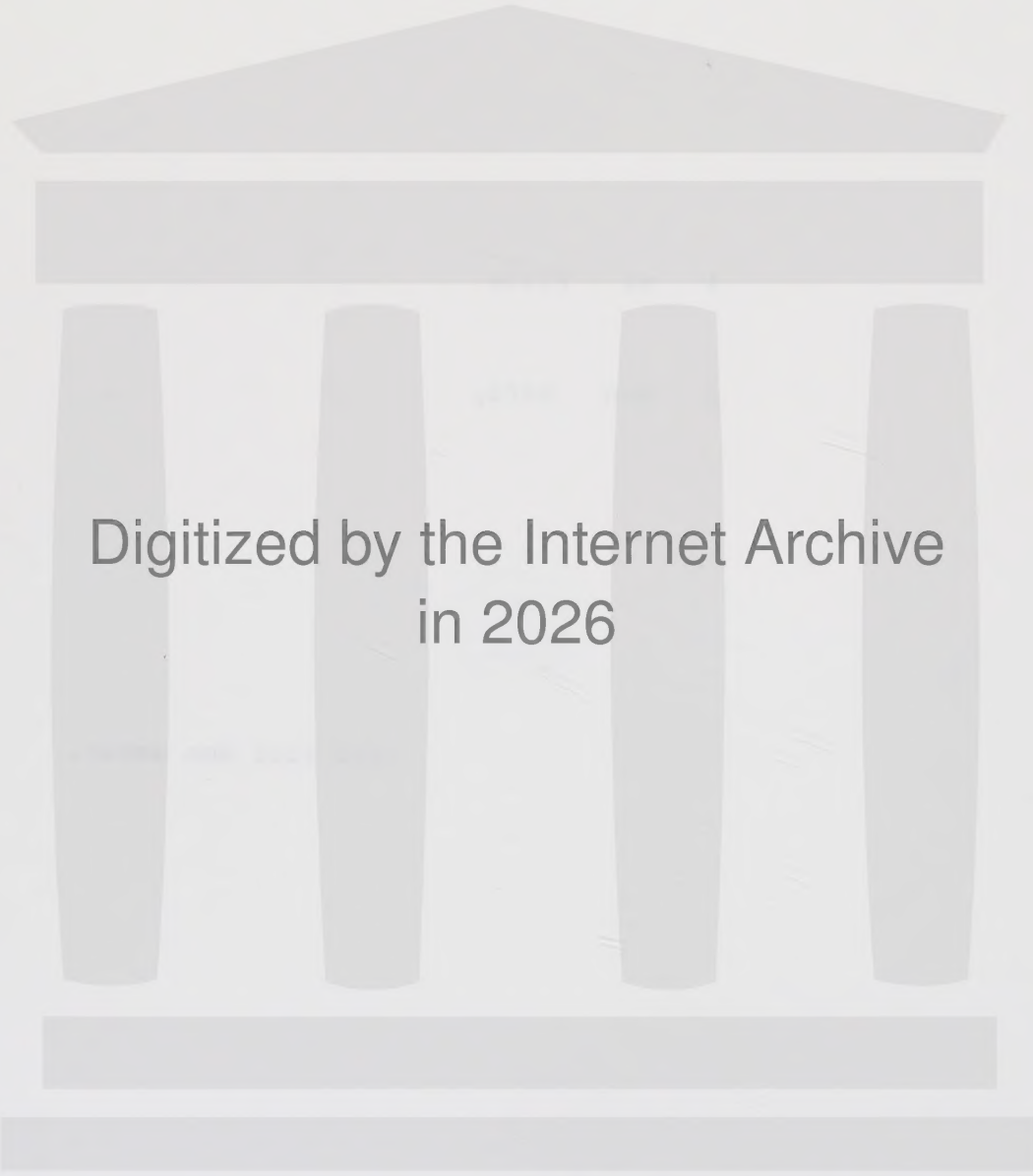
Président : M. Y.J. GOLVAN, Professeur



A ma fille

A mon mari,

Avec tout mon amour.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551519_0030

A mes parents

A mes beaux-parents

Pour leur compréhension et leur
dévouement.

A notre Maître et Président de Thèse.

Monsieur le Professeur Y.J. G O L V A N

Professeur sans chaire de la Faculté de Médecine

Saint-Antoine - PARIS

Biologiste des Hôpitaux.

C'est avec une très grande bonté qu'il a bien voulu nous accueillir dans son service, et a su nous initier à la médecine Parasitaire et Tropicale.

Avec sa gentillesse et sa délicatesse habituelle, il nous a fait bénéficier de ses profondes connaissances et de son expérience personnelle.

Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre respectueuse reconnaissance, de notre profonde admiration, de notre fidèle dévouement.

A nos Maitres,

Monsieur le Docteur H O U I N

Chef de Travaux à la Faculté de Médecine de Créteil - PARIS

Assistant des Hôpitaux.

Ses conseils furent toujours précieux.

Nous le prions de trouver ici l'expression de
notre fidèle et respectueux attachement.

Monsieur le Docteur F.A. L A N C A S T R E

Chef de Travaux à la Faculté de Médecine Saint-Antoine - PARIS

Biologiste des Hôpitaux.

qui guida mes premiers pas à l'Institut de
Parasitologie et fit preuve d'une très grande bonté
patience et compréhension à notre égard.

Qu'il trouve ici l'expression de notre
profonde reconnaissance et de notre amitié.

A nos Maitres,

Monsieur le Docteur A. BENSAUDE,

Médecin chef de l'Hôpital du RAINCY

Nous le remercions de son précieux
enseignement.

Qu'il trouve ici l'expression de notre
profonde gratitude.

Monsieur le Docteur J. DUPUIS

Ancien interne des Hôpitaux de Paris

Ancien chef de clinique des Hôpitaux de Paris

Chef du service de Médecine B de l'Hôpital du RAINCY

Qui nous a accueilli dans son service
pendant notre internat, et nous a enseigné
l'art de réfléchir.

Qu'il trouve ici l'expression de toute
notre amitié reconnaissante.

A Madame M.N. REGNAULT

Secrétaire du laboratoire de Parasitologie de la
Faculté de Médecine Saint-Antoine

qui a su mener à bien le fastidieux
travail de dactylographie.

En témoignage de notre sincère gratitude
Avec tous nos remerciements.

Aux Techniciennes du laboratoire de Parasitologie de la
Faculté de Médecine Saint-Antoine.

Mademoiselle F. DELTOUR

Mademoiselle J. BOLOGNINI

Madame Ch. DUBOIS

Madame M. QUIGNON

Toute notre amitié.

A mes collègues du laboratoire de Parasitologie de la Faculté
de Médecine Saint-Antoine.

Le Docteur J.C. B A Z I N

Nous le remercions de son aide précieuse
Qu'il trouve ici l'expression de toute
notre amitié.

Le Docteur Y. L E F I C H O U X

Toute notre sympathie.

A nos Maitres de Parasitologie de la Faculté de Médecine
de Paris,

Mademoiselle le Professeur Agrégé HO - THI - SANG

Monsieur le Professeur Agrégé GENTILLINI

Monsieur le Professeur Agrégé LAPIERRE

Monsieur le Professeur Agrégé LARIVIERE

Mademoiselle A. BUTTNER, Chef de Travaux.

I - I N T R O D U C T I O N

La Bilharziose génito-urinaire est une maladie connue depuis la plus haute antiquité par ses hématuries. La preuve en a été apporté par la découverte des oeufs calcifiés chez une momie datant de 1.000 à 2.000 ans avant J.C. (RUFFER en 1910).

Les "Pissements de sang" caractéristiques de la Bilharziose vésicale ont été décrit par les médecins arabes.

En 1851, lors d'une autopsie Th. BILHARZ trouve le parasite responsable, un ver trematode qui est dénommé Distoma haematobium puis Schistosoma haematobium par la suite.

L'année suivante SONSINO se basant sur l'existence d'oeufs à éperon latéral pense qu'il existe 2 espèces de vers, ce qui est confirmé MANSON en 1903.

En 1904, KASAI et KATSURADA décrivirent la Bilharziose sino-japonaise à Schistosoma japonicum.

Les Bilharzioses sont des maladies très répandues. A l'heure actuelle 300 millions d'individus en sont atteints.

C'est une endémie en pleine expansion par le fait de la mise en valeur des zones chaudes. Elles posent de nombreux problèmes sociaux et économiques dans certains pays.

Elle s'étend au fur et à mesure que s'étendent les cultures irriguées. La densité humaine s'accroît et, inéluctablement, le nombre des malades s'accroît.

Les Bilharzioses représentent ainsi le problème le plus important de l'épidémiologie mondiale après la Malaria.

La fréquence actuelle des déplacements, l'utilisation de la main-d'oeuvre étrangère en provenance des zones tropicales, la venue d'étudiants des pays d'endémie, la multiplicité grandissante des voyages intercontinentaux permettent d'observer en France, des cas de plus en plus nombreux.

A la consultation de pathologie parasitaire et tropicale de l'hôpital Saint-Antoine à Paris, les statistiques montrent que 20% des malades sont porteurs de Schistosoma mansoni, et que 9% sont porteurs de Schistosoma haematobium.

Au total 29% de la totalité des malades sont des Bilharziens. Cette parasitose apparaît comme la plus fréquemment retrouvée.

Le diagnostic de la Bilharziose est plus ou moins facile.

On la recherche systématiquement chez les sujets originaires des zones d'endémie (Antilles, Afrique noire).

Elle est rarement évoquée par une symptomatologie bruyante. A la période d'invasion, le parasite n'a pas atteint sa maturité génitale et les oeufs ne peuvent être mis en évidence dans les excréments. Le plus souvent, les signes cliniques sont discrets, voire absents.

Au point de vue biologique, l'hyperéosinophilie n'a qu'une valeur d'orientation, les bilharziens sont souvent des sujets polyparasités. Dans le cas d'une bilharziose pure, pratiquement d'acquisition ancienne, elle est modérée (5 à 15% environ).

Quant au diagnostic biologique direct, il se fonde sur la découverte des oeufs caractéristiques dans les urines, dans les selles, la biopsie rectale. Toutes ces recherches peuvent se révéler négatives à plusieurs examens successifs, car à la phase chronique de la maladie, les oeufs sont souvent arrêtés dans leur migration par la réaction fibreuse de l'organisme, d'où l'importance des méthodes diagnostiques basées sur l'immunologie.

Après le traitement spécifique, on assiste à la négativation progressive des examens d'urines et de selles. Mais seules les méthodes immunologiques, en plus de leur intérêt diagnostic permettent de suivre l'évolution de la maladie sous traitement et, à longue échéance affirmer la guérison.

Le principe des méthodes immunologiques est la mise en évidence de la production d'une globuline particulière appelée Anticorps. Ils sont élaborés par l'organisme et ont la propriété de réagir spécifiquement avec l'antigène qui les a induits.

II - RAPPEL EPIDEMIOLOGIQUE

L'agent pathogène est un ver appartenant à la famille des Schistosomidae, ordre des Trématodes, classe des Plathelminthes.

Il existe quatre espèces de Schistosomes pathogènes pour l'homme :

S. haematobium (BILHARZ 1851) WEINLAND 1858 : agent de la Bilharziose urinaire

S. mansoni (SAMBON 1907) : agent de la Bilharziose intestinale et hépatosplénique.

S. japonicum (KASTURADA 1904) : agent d'une Bilharziose hépatosplénique.

S. intercalatum (FISHER 1934) : agent d'une Bilharziose rectale.

MORPHOLOGIE

La morphologie des adultes ne diffère selon les espèces que par quelques détails.

Voici la description des vers Schistosoma haematobium suivant E. BRUMPT.

Le mâle est blanc ; il est long de 10 à 15 millimètres et sa largeur n'excède pas 1 millimètre. Le corps est plat comme chez tous les Distomodés, mais il paraît cylindrique, par suite de l'enroulement de ses bords qui délimitent ainsi un canal dans lequel se loge la femelle. Il présente 4 ou 5 grands testicules et les deux branches du tube digestif se soudent en arrière. Les bords du canal gynécophore prennent naissance moins brusquement que chez S. japonicum et S. mansoni. Les téguments sont recouverts, sur la face dorsale de la partie enroulée, de papilles cylindriques très nombreuses et très serrées ; la face ventrale, sauf sur la ligne médiane, présente de petites papilles épineuses.

La femelle est cylindrique et plus longue que le mâle ; la couleur noire de son intestin, facile à voir par transparence, lui donne une teinte foncée. Sa longueur est de 15 à 20 millimètres ; sa largeur augmente régulièrement d'avant en arrière, elle est de 100 μ en avant et de 200 μ en arrière ; la partie postérieure est atténuée. L'ovaire se trouve dans la moitié postérieure

du corps ; les vitellogènes occupent le quart postérieur. L'utérus, long, renferme, en général, de 10 à 30 oeufs mûrs à la fois.

Les animaux en copulation sont placés ventre contre ventre. Une fois la fécondation effectuée, les femelles quittent les mâles, qui restent habituellement dans les gros vaisseaux sanguins, et émigrent dans les petits vaisseaux où elles effectuent leur ponte.

Les Schistosomes sont des vers hémaphages. Ils vivent environ une vingtaine d'année dans les vaisseaux.

BIOLOGIE

Les quatre espèces ont sensiblement le même cycle évolutif.

Après accouplement et fécondation dans les gros troncs portes, les femelles remontent à contre courant le système veineux splanchique en suivant la veine mésentérique inférieure jusqu'à ses petites vésicules d'origine.

Les différentes espèces ont un tropisme particulier pour les territoires veineux, les Schistosoma mansoni, japonicum et intercalatum habiteront les plexus veineux puis intestinaux tandis que les Schistosoma haematobium fréquenteront les plexus péri-vésicaux.

De là, les femelles pondent durant toute leur vie des oeufs caractéristiques des différentes espèces. Ces oeufs repoussés dans les capillaires péri-intestinaux ou péri-vésicaux franchissent la muqueuse par effraction, tombent dans la lumière intestinale ou vésicale, et sont éliminés avec les fèces ou l'urine.

Les oeufs sont émis embryonnés avec à l'intérieur une petite larve ciliée appelée miracidium. Au contact de l'eau, à une température de 20 à 28° C, la larve est libérée de sa coque ovulaire. Sa durée de survie est de 24 heures. Elle doit trouver un mollusque spécifique et y pénétrer : le planorbe pour Schistosoma mansoni, le bullin pour Schistosoma haematobium, l'oncomelania pour Schistosoma japonicum, et un mollusque du genre Physopsis pour Schistosoma intercalatum.

Les miracidiums vont évoluer dans l'hépto-pancréas. Ils se transforment en sporocytes I et II, et vont donner naissance à des cercaires au bout de 25 à 30 jours. Ces cercaires à queue bifide (furcocercaires 500 U) quittent le mollusque par effraction. Elles nagent activement et pénètrent à travers la peau de l'hôte définitif.

La contamination se fait donc par voie transcutanée, mais la contamination par voie orale est possible.

L'hôte définitif est l'homme pour Schistosoma haematobium, l'homme et divers mammifères sauvages et domestiques (rongeurs, bétail, porcs) pour les autres espèces.

Les furco-cercaires se débarrassent de leur queue lors de la pénétration transcutanée et sont appelés Schistosomules. Ces Schistosomules gagnent en 24 heures par voie lymphatique et sanguine le coeur droit et les poumons (En 24 heures à 3 jours), puis passent dans le coeur gauche, gagnent la circulation abdominale, le système porte et deviennent adultes dans le foie en 4 à 6 semaines.

Les femelles adultes migrent à contre-courant dans les veines mésentériques ou vésicales. Un certain nombre d'oeufs sont éliminés, d'autres embolisent les vaisseaux du système porte du foie. Souvent les mâles demeurent dans le foie où leur présence est souvent constatée.

Le rectum serait un lieu de transit pour toutes les espèces.

Les vers deviennent adultes vers le 2ème mois, les oeufs apparaissent environ 40 jours à 2 mois après l'infestation. La longévité des vers est très grande de 10 à 20 ans, seulement de 3 à 5 ans pour le Schistosoma japonicum.

L'homme peut héberger parfois un nombre de vers considérable, de quelques centaines à des milliers.

REPARTITION GEOGRAPHIQUE

Les Bilharzioses affectent tous les continents mais sont strictement réparties.

1°- Bilharziose urinaire à Schistosoma haematobium (mollusque hôte genre Bulinus), l'Afrique, Madagascar, Maurice, le Moyen-Orient et le Sud du Portugal (où l'hôte intermédiaire est un planorbe).

- 2°- Bilharziose intestinale à Schistosoma mansoni (mollusque hôte : genre Australorbis ou Biomphalaria) l'Afrique moins le Magreb, Madagascar, l'Amérique Tropicale (Brésil, Antilles).
- 3°- Bilharziose hepato-splénique à Schistosoma japonicum (mollusque hôte : genre Onchomelania) les provinces chinoises baignées par le Yang-Tse-Kiang, le Japon, les Philippines, quelques foyers en Thaïlande.
- 4°- La Bilharziose rectale à Schistosoma intercalatum (mollusque hôte : genre Physopsis) bassin inférieur du Congo-Gabon.

CONTAMINATION

La contamination se faisant par contact avec de l'eau contenant des furcocercaires, certaines catégories de gens seront plus particulièrement exposées :

- les enfants par les jeux, les baignades.
- certaines professions : cultivateurs, cultures irriguées, bateliers etc...
- L'indice d'infestation d'une population est aussi un reflet de ses conditions économiques et d'hygiène, et voire même de sa religion, mais paradoxalement le développement de l'irrigation augmente le nombre de sujets parasités en fournissant des gîtes aux mollusques, en favorisant les contacts de l'homme et de l'eau.

En outre, des transports plus commodes et les migrations de travailleurs passant d'une zone infestée à une zone indemne contribuent à la dissémination de la parasitose.

PROPHYLAXIE

Il existe trois points vulnérables :

- 1°- Les porteurs d'oeufs
- 2°- Les mollusques vecteurs
- 3°- Les eaux infestées par les cercaires.

La protection des individus contre les eaux infestées est pratiquement impossible. Le mépris des règles de l'hygiène la plus élémentaire ayant pour corollaire la souillure fécale et urinaire des eaux douces en sont responsables.

La lutte contre les mollusques hôtes se fait par les molluscoscides qui entraînent un bouleversement de la faune aquatique et des poissons.

C'est au niveau des porteurs d'oeufs qu'une véritable action prophylactique peut et doit se faire avec les possibilités actuelles.

Les moyens de détection sont :

- cliniques, mais ils n'apportent pas la preuve
- biologiques, ne permettant pas à eux seuls le diagnostic de certitude. Là encore il faut distinguer :
 - les moyens directs (découverte des oeufs dans les selles) qui sont toujours délicats et qui pèchent par défaut et surtout
 - les méthodes immunologiques dont l'application se superpose à toutes les étapes cliniques du diagnostic et thérapeutiques.

Théoriquement la prophylaxie a quelque chance d'être efficace lorsque seul le "réservoir de virus" humain est en cause. Lorsque d'autres Mammifères sauvages ou domestiques interviennent dans le cycle du parasite les chances d'éradication deviennent pratiquement nulles. Il en résulte qu'avec Schistosoma haematobium on peut espérer une amélioration de la situation actuelle. Avec Schistosoma mansoni et surtout Schistosoma japonicum le combat est actuellement sans espoir !

III - CLINIQUE

Les manifestations cutanées et toxiques de la période d'invasion sont communes à toutes les Bilharzioses. A la période d'état et des complications les différents syndromes bilharziens sont bien individualisés

1°- Les manifestations cutanées

Elles ne sont évidentes que lors d'infestations massives. Il s'agit d'un prurit intense, de poussées urticariennes. Ces dermatoses portent divers noms : dermatite des nageurs, Kabusé au Japon, Piguina à Porto-Rico.

2°- La phase toxémique ou phase d'invasion

Elle survient après une phase de latence, absolument silencieuse de 30 à 40 jours.

C'est le tableau d'une maladie générale fébrile, avec une hyperthermie souvent élevée et irrégulière, des céphalées, des arthralgies, des manifestations neuro-psychiques, pseudotyphoidiques, tufhos et délire, des manifestations gastro-intestinales telles que hépatomégalie, intumescence splénique.

Les manifestations allergiques sont souvent importantes, eruption urticarienne avec oedèmes, syndrome de Löffler. L'éosinophilie est à ce stade maximum (30 à 80%).

L'évolution s'effectue en 3 à 4 semaines, entrecoupée de rémissions et s'accompagne d'une altération de l'état général.

La phase toxémique correspond à la maturation des vers. Leur catabolisme serait responsable des phénomènes toxiques.

3°- La période d'état

1°- Bilharziose génito-urinaire

La manifestation la plus fréquente et caractéristique est l'hématurie. Elle est souvent discrète et terminale. Elle peut s'accompagner de troubles mictionnels, dysurie, pollakiurie, douleurs sus-pubiennes avec irradiation vers les flancs. Les surinfections microbiennes urinaires sont souvent associées.

Tous ces troubles sont en général bien supportés, l'évolution est latente. La preuve de la Bilharziose sera apportée le plus souvent par un examen systématique des urines.

L'éosinophilie oscille entre 8% et 15% avec un nombre de leucocytes normal ou subnormal.

L'évolution spontanée se fait vers la guérison dans les pauci infestations. Mais chez les malades des régions d'endémie sans cesse réinfestées depuis l'enfance, la chronicité et les complications sont la règle.

Les complications sont d'ordre :

vésicales avec cystites bilharziennes purulentes, lithiase vésicale, rétractions vésicales, calcification, proliférations papillomateuses, fistules vésico-rectales, vésico-vaginales.

urétrales urètre spongieux, ulcérations scrotales

urétérales sténose urétérale surtout dans la région sus méatique, dilatation et rénales sus-jacente avec hydronéphrose.

génitales dans 90% des Bilharzioses à Schistosoma haematobium avec induration de la prostate, des vésicules séminales, du cordon, balanoposthite, endométrite, polypose du col.

localisations aberrantes : péritonéales, cardiaques, pulmonaires, nerveuses.

Les complications hépato-spléniques sont moins fréquentes que dans la Bilharziose à Schistosoma mansoni, la splénomégalie est isolée.

L'association bilharziose urinaire, carcinome vésical est troublante, mais non convaincante.

2°- La Bilharziose à Schistosoma mansoni

A la période d'état, le tableau typique est constitué de douleurs épigastriques et abdominales survenant par crises accompagnées de diarrhées à selles molles ou liquides, peu abondantes, muco-glaireuses, parfois sanglantes. Le cadre colique est tendu, douloureux, les ténésmes sont fréquents. Mais à l'opposé, cette période peut rester asymptomatique.

Le toucher rectal met en évidence des polypes adéno-papillomateux mous, friables, saignant facilement et pouvant faire issue par l'anus ou déterminer un syndrome occlusif.

Il existe une splénomégalie douloureuse. L'éosinophilie est plus élevée. L'évolution spontanée se fait soit vers la régression ou, si les infestations sont importantes et répétées, vers la Bilharziose hépato-splénique

Cette forme peut se manifester par une hépatomégalie, une splénomégalie isolée ou évoluer vers un tableau de cirrhose vraie avec un foie dur et scléreux accompagné de troubles dyspeptiques et intestinaux, hémorragies digestives répétées, hémorroïdes, oedème malléolaire et se compliquent bientôt d'un syndrome d'hypertension portale.

L'évolution se fait vers la mort par cachexie et souvent hâtée par une hémorragie cataclysmique (varices oesophagiennes).

3°- La Bilharziose à Schistosoma japonicum, rarement observée en France.

La période d'état est marquée par des manifestations hépato-spléniques. Elle évolue rapidement vers la cachexie.

Le Schistosoma japonicum est un parasite mal adapté à l'homme.

4°- La Bilharziose à Schistosoma intercalatum.

Elle se manifeste par des douleurs abdominales vagues et un syndrome dysentérique.

Le diagnostic clinique des bilharzioses doit toujours s'appuyer sur la notion de séjour, même bref, en zone d'endémie, avec bains en eau douce, même s'il s'agit de piscines soit disant bien contrôlées.

Les examens para-cliniques courants ne montrent que des perturbations peu significatives.

Si au début, comme dans beaucoup d'Helminthiases il existe une hyperéosinophilie à 70-80% avec une hyperleucocytose à (10 à 20.000), à la phase d'état l'éosinophilie peut varier entre 5 - 15% et il n'y a plus d'hyperleucocytose.

Dans la Bilharziose urinaire l'urée sanguine est normale. La N.F.S. (en dehors des surinfections) est subnormale.

Dans la Bilharziose à *Schistosoma mansoni* on retrouve des perturbations modestes du bilan biologique hépatique. Les tests de floculation (Mac-Lagan, Kunkel phénol, Kunkel zinc, Gros) sont perturbés modérément chez 12% des malades.

La B.S.P., les transminases, les phosphatases alcalines, le taux de prothrombine sont normaux. Seule la cholestérolémie est souvent basse. La numération des plaquettes est le plus souvent normale (en dehors de la phase hépato-splénique).

Au total, et ceci ressort de nos observations à la consultation de pathologie parasitaire et tropicale de Saint-Antoine, la très grande majorité des malades semble tolérer de façon satisfaisante la présence de leur parasite.

Le problème est donc essentiellement de mettre en évidence cette parasitose.

IV - RAPPEL DES METHODES DIRECTES DU DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES BILHARZIOSES

Toutes ces méthodes consistent à mettre les oeufs de bilharzies en évidence.

1°- Dans les urines

La recherche des oeufs de Schistosoma haematobium s'effectue dans les urines de 24 heures. Le sédiment est soutiré, centrifugé. Le culot est examiné à la recherche des oeufs caractéristiques. Au milieu des hématies et des polynucléaires on retrouve des oeufs ovalaires à éperon polaire, mesurant 150 x 60 U. Parfois ces oeufs sont enchassés dans des placards cellulaires. A l'intérieur on voit le miracidium mobile cilié, prêt à éclore. Il est à noter qu'il est inutile de rechercher une bilharziose urinaire chez un malade originaire des Antilles et (ou) n'ayant séjourné que dans cette région puisque le parasite, importé massivement lors de la traite des esclaves africains, n'a pu s'y implanter faute d'hôte intermédiaire favorable.

2°- Dans les selles

Les examens de selles permettent de mettre en évidence les oeufs de Schistosoma mansoni et Schistosoma japonicum, plus rarement Schistosoma intercalatum.

L'examen d'une parcelle de selle diluée dans une goutte d'eau physiologique ne montre des oeufs que dans un très petit nombre de cas. L'utilisation de méthodes spéciales est indispensable.

Une méthode couramment utilisée, simple, et qui concentre bien les oeufs de schistosomes est la M.I.F. concentration. Elle consiste à diluer au 1/10 une petite quantité de selle dans quelques cm³ de solution mère de Merthiolate, puis filtrer. Après homogénéisation, on centrifuge 1 minute à 1.700 tours minute le mélange 2/3 de filtrat, 1/3 d'éther.

On examine le culot au microscope. Les oeufs de Schistosoma mansoni apparaissent ovalaires, à éperon latéral, mesurant 110-160 X 60-70 microns. Ils sont embryonnés.

Les oeufs de Schistosoma japonicum sont plus petits

60-75 X 50 microns et présentent un tout petit éperon latéral mousse.

Les oeufs de Schistosoma intercalatum possèdent un éperon terminal. Ils ressemblent aux oeufs de Schistosoma haematobium mais leur taille est plus grande, 240-140 X 75-60 microns. Ils sont embryonnés. Une activation du transit intestinal par le sulfate de soude ou de magnésie est nécessaire. Malgré cela, l'élimination des oeufs est irrégulière dans le temps et en quantité.

3°- Dans la biopsie rectale.

C'est un examen de valeur, mais à réserver dans les cas où les recherches d'oeufs dans les selles et les urines se seraient révélées négatives malgré des suspicions d'ordre clinique et épidémiologique.

La biopsie se fait avec une pince à biopsie type BENSANDE sous anuscopie. Le siège de la biopsie, si la muqueuse rectale semble normale, se situe au niveau de la valvule de Houston, si on suspecte une Bilharziose à Schistosoma mansoni, un peu plus bas, s'il s'agit d'une Bilharziose à Schistosoma haematobium.

Le fragment biopsique, gros comme un grain de riz est écrasé entre deux lames, examiné au microscope. Il doit comporter un peu de sous muqueuse. A frais les oeufs sont facilement reconnus. Ceux de Schistosoma haematobium sont souvent morts et noirâtres.

4°- Dans la biopsie vésicale.

Elle est peu pratiquée car moins commode que la biopsie rectale. Un fragment de muqueuse vésicale prélevé par cytoscopie est écrasé entre deux lames montre des oeufs à éperon polaire à différents stades de maturité ou de dégénérescence.

5°- Dans la ponction biopsie hépatique.

Cette technique dangereuse par ses complications évidentes est à déconseiller.

Elle permet de mettre en évidence des lésions anatomopathologiques caractéristiques ainsi que les oeufs cutanés de sclérose.

6°- Acido-alcoololo-résistance des oeufs de Schistosomes

La ponction biopsique du foie, les coupes d'organes prélevées aux cours d'interventions pour appendicite, annexite ou épididymite montrent des oeufs difficiles à identifier, la coupe ne passant pas nécessairement par l'éperon. Il existe des techniques de coloration spéciales qui permettent de distinguer les oeufs Acido-alcoololo résistants du type Schistosoma mansoni et les oeufs qui ne conservent pas la coloration par la fuchsine du type Schistosoma haematobium.

VI - DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE INDIRECT

Etude des différentes méthodes

A- INTRA - DERM - REACTION

L'intra-dermo-réaction fut la première réaction immunologique proposée pour le diagnostic de la Bilharziose, mais le problème le plus difficile est la fabrication de l'antigène.

Dès 1924, LEVAS emploie un extrait de Fasciola hepatica comme antigène.

En 1927, FAIRLEY et WILLIAMS utilisent des extraits de Schistosomes adultes.

En 1944, OLIVER-GONZALES et PRATT proposent l'emploi de cercaires vivantes.

Puis, BOCICEVICH et HOWEN en 1947, utilisent des extraits de cercaires délipidés par l'éthanol.

En 1946, ALVES et BLAIR préparent un filtrat d'extrait de cercaires au travers d'un papier filtre.

PELLEGRINO en 1958, a fait d'importants travaux sur l'intra-dermo-réaction. Il a utilisé tour à tour des extraits de cercaires, d'oeufs de miracidiums et de vers adultes desséchés de Schistosoma mansoni ainsi que des extraits d'organes digestifs de planorbes infestés.

Il en déduit qu'une partie de la fraction active de l'antigène serait un polysaccharide.

L'Institut Pasteur de Paris a commercialisé un antigène pour l'intra-dermo-réaction.

Cette technique est soumise à des règles bien précises d'exécution et d'interprétation déterminées par les experts de l'Organisation Mondiale de la Santé.

Principe de l'Intra-dermo-réaction.

Elle révèle l'état anaphylactique de la peau du malade vis-à-vis des extraits du parasite.

La réponse à l'injection intradermique de l'allergène vermineux est caractérisé par sa précocité (délai d'apparition de 10 à 20 minutes), et par son aspect erythémato-papuleux, parfois prurigineux.

Technique

I- Méthode générale de préparation de l'antigène bilharzien (Institut Pasteur (Mademoiselle BENEX)).

Les Schistosomes adultes (Schistosoma mansoni) sont recueillis chez la souris ou le hamster infesté expérimentalement. Ils sont lavés plusieurs fois en eau physiologique froide. Ils sont séchés rapidement sur papier filtre puis pesés. Ils sont coupés en petits fragments, broyés ou mixés à basse température jusqu'à l'obtention d'une "bouillie".

Les lipides étant responsables de nombreuses réactions croisées, on délipide par l'éther en 2 temps.

1°- Homogénéisation

On ajoute à la pâte 10 volumes d'éther et on homogénéise au mixeur pendant 15 minutes. Le tube contenant le broyat doit plonger dans un récipient contenant un mélange de glace pilée, d'alcool et de sel atteignant - 15° C.

2°- Centrifugation

Le résidu délipidé est centrifugé à 3.000 T/mm à - 20° pendant 30 minutes.

On décante le surnageant.

Ces opérations sont recommencées deux ou trois fois en ajoutant à chaque fois 10 volumes d'éther qui rompt les cénapses lipo-protéiques.

Une dernière homogénéisation en éther-éthylique, suivie d'une centrifugation à - 15° C, donne un culot qui constitue le broyat d'helminthe délipidé.

Celui-ci est placé dans un dessiccateur en chambre froide, et progressivement le culot est concassé et brassé de façon à éliminer les dernières traces d'éther.

De cette poudre séchée qui peut être conservée à 20° C est extrait l'antigène.

L'extraction s'effectue en solution tampon véronal. On utilise 10 volumes de ce tampon par gramme de poudre sèche. La poudre y est mise en suspension au mixeur à vitesse réduite pendant 10 minutes et en maintenant le tube dans un bain de glace à 0°.

L'extraction s'effectue soit par ultra-sons soit par congélation et décongélation successives. Une centrifugation de 30 minutes à 10000 g. entre + 3 et + 5° C élimine l'insoluble. Le surnageant représente l'antigène brut délipidé. Avant toute chose, on titre l'antigène en chlorures et en protéines.

Le taux de protéines est ramené par dilution à une valeur fixe optimale de 5 à 10 unités de protéines pour le 1/20 de chaque injection (30 Ug. d'azote par ml). Par le taux des chlorures on vérifie que la solution est isotonique.

Chaque préparation antigénique est stérilisée par filtration sur millipore au calibre de 0,22 U, puis additionnée d'un antibactérien et répartie en ampoules de 0,25 ml., scellées stérilement.

Certaines préparations peuvent être lyophilisées.

Les contrôles de stérilité habituels (aérobie et anaérobie) sont effectués avant et après la mise en ampoules.

II- Exécution de la réaction

L'injection se fait soit au niveau de la région scapulaire ou interscapulaire, soit à la face antérieure de l'avant bras.

La peau est préalablement désinfectée puis on injecte, strictement en intradermique, 0,05 ml. de la solution antigénique.

Une injection témoin doit toujours être effectuée à l'aide du liquide de dilution de l'antigène, afin d'éliminer les fausses réactions qui pourraient être dues à une réactivité anormale du sujet testé.

III- Lecture des résultats

La lecture de la réaction est effectuée 15 minutes après l'injection. Son intensité est appréciée par la mesure de la papule oedemateuse formée. Les contours en sont soulignés par un trait de crayon gras puis décalqués sur une feuille de papier millimètre imprégnée d'alcool. La surface est ensuite évaluée à l'aide d'un gabarit approprié et elle est comparée à celle de l'injection témoin.

La papule et l'érythème disparaissent en général entre 1 heure et 4 heures, une infiltration du derme peut persister pendant 24 heures.

La réaction est positive si la surface de la papule est supérieure à 1 cm². Cette réaction est souvent plus faible chez la femme et l'enfant.

Pour la bonne standardisation du test, il faudrait s'assurer de l'égalité des volumes injectés, ainsi que de la même profondeur strictement intradermique du test.

L'intra-dermo réaction n'est positive qu'à la phase chronique de la Bilharziose. Elle est négative durant la phase d'infestation. Elle reste positive longtemps après la guérison. Les réactions croisées avec les autres helminthiases sont rares.

IV - Intérêt de cette méthode

Ce test cutané présente de nombreux avantages : économie de temps, d'appareils, de personnels, résultats rapides. Il peut permettre des enquêtes épidémiologiques.

PELLEGRINO (1958) pense que ce test serait positif chez 90% des bilharziens.

En France, des enquêtes pratiquées chez des bilharziens hospitalisés, ont montré que ce test n'était positif que dans 50% des cas de bilharziose cliniquement ou biologiquement avérée.

La variabilité des pourcentages positifs est probablement due au lieu choisi et aux malades considérés.

En effet, dans les pays à endémie bilharzienne, il s'agit de bilharziose massive, avec un nombre important d'anticorps circulants, donc le test intradermique sera positif dans la plupart des cas.

A Paris, les malades bilharziens présentent en général des formes à minima de la maladie, avec un faible taux d'anticorps circulant. Le test intradermique sera donc plus volontiers négatif.

B- LA REACTION DE FIXATION DU COMPLEMENT

Historique

Ce fut la première réaction sérologique préconisée pour le diagnostic de la Bilharziose. YOSHIMOTO, en 1910, réalisa ce test en utilisant comme antigène un extrait alcoolique de vers adultes (*Schistosoma japonicum*).

En 1919, FAIRLEY, proposa comme antigène un extrait de planorbes parasites, mais il existait une réaction croisée entre les sérums syphilitiques et les sérums des malades atteints de Bilharziose.

Le problème des antigènes purifiés, débarassés au moins partiellement de leurs constituants aspécifiques n'a su jusqu'à ce jour être complètement résolu.

Tour à tour, de nombreux auteurs décrivirent une réaction de fixation du complément avec un antigène modifié.

En 1954, CHAFFEE, BAUMAN et SHAPILO préconisèrent l'emploi d'un antigène, extrait de *Schistosoma* adultes, deshydraté, délipidé par l'éther anhydre à moins de 15°. Les réactions croisées avec les sérums syphilitiques sont atténuées mais persistent.

En 1961, PELLEGRINO et FREITAS reprennent et améliorent la méthode précédente.

En 1960, SLEEMAN utilise un antigène extrait à l'aide du desoxychlorate de sodium.

En 1963, PAUTRIZEL, TRIBOULEY et DURET préconisent une réaction à l'aide d'un antigène délipidé.

Principe

C'est une réaction d'un emploi très général.

Le complément est un système thermolabile formé de plusieurs composants normaux de sérum. Il se fixe sur les complexes antigène-anticorps.

La fixation du complément est mise en évidence par sa disparition du milieu de réaction, ce qui empêche dans un deuxième temps la réaction d'hémolyse lorsque des hématies "sensibilisées" par l'immun-sérum hémolytique correspondant sont ajoutées au milieu.

Technique

La technique décrite est celle employée par PAUTRIZEL, TRIBOULEY et DUREL.

Préparation de l'antigène.

L'antigène est fabriqué à partir de Schistosoma mansoni adulte. La souche est entretenue au laboratoire. Elle a été isolée à partir d'oeufs contenus dans les selles d'un malade bilharzien originaire des Antilles françaises. Elle est entretenue sur souris.

Les vers vivants sont récoltés par une méthode dérivée de celle de RADKE. Ils sont lavés à l'eau physiologique et stockés à - 25° C (conservation de quelques mois).

Les vers sont broyés, les broyats sont congelés et décongelés successivement, traités par l'éthanol puis l'éther anhydre. Le culot est placé dans un dessiccateur relié à une trompe à eau pendant 12 heures.

De cette poudre délipidée, va être extrait l'antigène. Elle est pesée et mise en suspension à 1°/° dans de l'eau bi distillée ajustée à PH 7,2 avec une solution tampon phosphate. La teneur en azote de la solution antigénique ainsi obtenue est évaluée par Microkjeldahl. Cette solution est ensuite répartie en ampoules, lyophilisée et conservée.

La réaction de fixation du complément est réalisée par la technique classique de KOLMER.

L'antigène a été dilué au 1/10. L'unité complémentaire a été déterminée en recherchant la dose minimale de sérum hémolytique de lapin donnant l'hémolyse totale des hématies de mouton.

Résultats

Dans ces conditions, les sérums testés de malades bilharziens se sont révélés positifs dans 90% des cas. L'ensemble de cette expérimentation

donne des pourcentages sensiblement égaux aux autres réactions de fixation du complément.

Les taux varient de 1/2 à 1/256. Les auteurs ont noté des réactions croisées avec des sérums de malades atteints de Distomatose hépatique à Fasciola hepatica seulement dans les premières dilutions.

Il faut noter que seule cette réaction a été effectuée chez un malade atteint de Bilharziose, à la période d'infestation (avant l'apparition des oeufs dans les selles). Elle s'est avérée positive au 1/64.

Intérêt de cette méthode

Cette réaction est sensible, simple à réaliser bien que le problème de l'antigène ne semble encore pas tout à fait résolu. Les réactions croisées sont presque totalement éliminées, mais il n'existe pas de spécificité d'espèce vis-à-vis des différents Schistosomes parasites de l'homme. Elle doit permettre de suivre l'évolution du taux des anticorps après traitement de la maladie.

La réaction de conglutination

En 1964, PAUTRIZEL, TRIBOULEY, GERNOVICZT et DURET appliquèrent la réaction de fixation du complément conglutinant au diagnostic sérologique de la bilharziose.

La fixation du complément sur le complexe antigène-anticorps était décelé par l'agglutination des globules rouges de mouton par du sérum de boeuf, en présence d'un complément particulier du sérum de cheval.

Cette réaction s'est révélée gênée dans son exécution et dans son interprétation par des phénomènes de zone.

Les résultats furent identiques à la réaction de fixation du complément hémolytique.

C- REACTION D'AGGLUTINATION

En 1939, ALCAY, MARILL et MUSSO appliquent les réactions de floculation au diagnostic de la Bilharziose. Ils étudient les modifications des réactions de MEINICKE, de CHORINE et de GATE, et montrent l'existence

de troubles sérologiques au cours des Bilharzioses à Schistosoma mansoni et à Schistosoma haematobium.

En 1946, BRANDT et FINCH, préconisent une réaction d'agglutination de cristaux de Cholestérol-lécithine pour le diagnostic de la Schistosomose.

En 1956, COUDERT et COLY, essayent d'appliquer la réaction d'agglutination des particules de collodion sensibilisées à quelques parasitoses dont la Bilharziose.

La réaction d'agglutination au latex est appliquée par Mademoiselle BENEX à l'Institut Pasteur de Paris pour le diagnostic de la Bilharziose.

Principe

Le principe de ces réactions consiste à mettre en évidence la présence d'anticorps bivalents dans un sérum par agglutination directe de particules d'un support insoluble préalablement revêtues de l'antigène : il s'agit souvent de particules de latex de polystyrène.

Technique (Melle J. BENEX - Institut Pasteur - Paris).

1°- Préparation de la suspension de latex

La suspension initiale de latex doit contenir des particules dont le diamètre moyen est compris entre 0,300 et 0,850 U.

A partir de cette suspension, les dilutions sont faites dans un tampon adéquat. On mesure au spectrophotomètre les densités optiques de chaque dilution.

2°- Titrage de l'antigène

L'antigène doit être employé à une dilution optimale ce qui nécessite un titrage de l'antigène par rapport au lot de latex choisi, une agglutination maximale en présence d'un sérum témoin-positif, et aucune agglutination avec un témoin négatif.

3°- Sensibilisation des particules de latex.

La suspension de latex est mélangée à l'antigène choisi dans

les proportions déterminées par le titrage est laissée en contact 15 minutes avec l'exécution du test. Les proportions varient légèrement d'un antigène à l'autre.

Les solutions une fois préparées doivent être conservées entre + 4° et + 10° C.

4°- Exécution du test

On utilise des sérums inactivés ou non. Cependant le chauffage à 56° C peut diminuer la capacité réactionnelle des sérums testés d'où une agglutination plus faible.

Sur une plaque de verre dégraissée très propre, on dépose à la pipette Pasteur une goutte de sérum à examiner et deux gouttes de la suspension antigénique de latex.

On mélange intimement et on place sur un agitateur mécanique (180 tours/minute) pendant 6 minutes.

5°- Lecture des résultats

La lecture des résultats peut se faire immédiatement ou mieux après 2 à 3 minutes de repos. On compare les agglutinations obtenues à celles des sérums témoins positifs et négatifs. Un dosage quantitatif est possible par dilution du sérum suspect.

La lecture des résultats est exprimée en intensité de la réaction.

Agglutination en brique pilée +++

Agglutination en gros flocons ++

Petits agglutinats +

Quelques agglutinats dispersés $\pm$

Aucune agglutination 0.

Intérêt de cette méthode

C'est une réaction simple à réaliser, elle est spécifique mais d'une sensibilité inférieure par exemple à la réaction de fixation du complément.

Réaction d'héماغglutination

L'application de la réaction d'héماغglutination à la Bilharziose fut faite par MAGAN et OLIVER-GONZALES en 1955.

Ils utilisent des extraits salins de cercaires de Schistosomes fixés sur des hématies tannées.

La reproductibilité de ces tests d'agglutination est encore incertaine et des études plus poussées sont nécessaires.

D- LES METHODES DE PRECIPITATION EN GELOSE

L'Ecole Lilloise a développé, depuis une dizaine d'années, les applications à la recherche et au diagnostic parasitologiques des réactions de précipitations en gélose. Différentes parasitoses ont été étudiées tant expérimentalement que cliniquement et, parmi elles, particulièrement la Bilharziose.

Principe de la méthode d'Ouchterlony

Dérivée de la méthode princeps de OUDIN, la technique d'Ouchterlony révèle la précipitation en leur zone d'équivalence de l'anticorps spécifique en diffusant l'un vers l'autre en milieu gélifié. On utilise de la gélose clarifiée et tamponnée, coulée dans une boîte de Petri ; des puits distincts creusés dans l'épaisseur du disque de gélose servent à recevoir chacune des solutions. Il s'agit d'un "antigène" multiple, chaque déterminant précipitera avec l'anticorps correspondant à leur point d'équivalence, en pratique selon une ligne arciforme perpendiculaire à l'axe des deux puits, si bien qu'on peut lire un ensemble de lignes correspondant chacun à un système antigène anticorps diffusant.

Principe de l'Immunoélectrophorèse

L'Immunoélectrophorèse de GRABAR et WILLIAMS présente l'avantage de mieux séparer les antigènes et de préciser leur mobilité électrophorétique. Elle associe les principes de l'électrophorèse à ceux des réactions de précipitation immunologique en milieu gélifié.

En parasitologie, c'est l'antigène que l'on fait migrer en gélose, au moyen d'un champ électrique, tandis que le sérum suspect ou expérimental hyperimmun est versé secondairement dans une gouttière parallèlement tracée à l'axe de la migration.

Après double diffusion, les deux réactifs parvenus au contact déterminant dans le gel, un arc de précipitation spécifique révélant le complexe formé. A chaque antigène correspondant un arc de précipitation, bien

plus distinct de ses voisins car se répartissant sur la plaque non seulement transversalement en fonction de l'équivalence anticorps-antigène, mais encore sur la longueur selon la référence de chaque constituant du complexe antigénique.

Technique

a - Antigènes

Des antigènes spécifiques à chaque Bilharziose à Schistosoma mansoni, à Schistosoma japonicum, à Schistosoma haematobium peuvent être utilisés. Ce sont des extraits :

1°- De vers adultes, de cercaires, d'oeufs et des produits d'incubation de Schistosoma mansoni.

Les Schistosomes sont récoltés vivants à partir de hamsters, ou de souris infestés expérimentalement. Ils sont lavés trois fois à l'eau physiologique, les Schistosomes sont congelés dans l'eau distillée puis lyophilisés. Le broyat réfrigéré des Schistosomes constitue l'antigène brut. L'antigène brut des Schistosomules est préparé dans les mêmes conditions techniques. Les Schistosomules sont récoltés par perfusion de hamsters infestés depuis 25 jours. Les produits d'incubation des Schistosomes vivants, ou "incubat" sont recueillis après un séjour des vers dans l'eau physiologique pendant trois heures.

2°- De vers adultes de Schistosoma haematobium récoltés par perfusion de hamsters infestés par voie transcutanée 15 semaines auparavant par 600 cercaires.

3°- De vers adultes de Schistosoma japonicum traités dans les mêmes conditions techniques.

Pour le diagnostic de la Bilharziose, seul l'antigène de Schistosoma mansoni est utilisé.

Il existe des communautés antigéniques étroites entre les différentes variétés, d'autre part, cet antigène est le plus facile à obtenir en grande quantité lorsque la souche est bien adaptée aux animaux de laboratoire.

b- Méthodes

On utilise des lames de verre de 10,5 cm sur 5 cm préalablement dégraissées à l'acide acétique à 2%, puis à l'alcool à 90°. Les lames sont essuyées soigneusement.

Pour une lame, on pèse 90 mg d'agarose pour 10 ml. de tampon véronal à Ph 8,2.

On laisse chauffer au bain-marie à la température maximum 80, 85°.

La gélose doit être utilisée limpide, et coulée à 70° environ à la pipette de 10 cc., soit 9,5 ml. par lame.

On laisse durcir 15 minutes. Puis on trace le diagramme :

1°- Ouchterlony

Avec un couteau circulaire pour gel d'agar, on trace un puit central où sera placé le sérum humain pur et à une distance de 6 m, on trace des puits de dimensions inférieures, où sera logé l'antigène dilué à 1°/°°.

2°- Immunoélectrophrèse

L'antigène somatique appelé "I °/°" (en dilution dans de l'eau physiologique à 8,5 g. pour un litre ou dans de l'eau distillée à raison de 20 ml. pour 0,1 ml) est déposé dans la fente centrale du diagramme à l'aide d'une pipette Pasteur.

Les fentes horizontales sont tracées, mais ne sont pas retirées.

L'antigène migre pendant 5 heures 30 sous une différence de potentiel de 20 volts (voltage pris aux bornes de chaque lame) du pôle - vers le pôle +.

Dans la cuve les lames sont accolées les unes aux autres, aux extrémités des lames 2 bandes de papier Watmann n° 1 (largeur 4 cm, rebord 1/2 cm) permettent d'établir le pont entre le tampon de la cuve et les lames.

Après migration de l'antigène au bout de 5 heures 30, les fentes horizontales sont enlevées et la gouttière remplie par le sérum du malade concentré par lyophilisation (3 fois généralement rapport antigène-anticorps).

Les lames sont déposées dans des bacs d'incubation au fond

desquels un papier imbibé de merseptil ou azohydrate de sodium, se trouve en permanence.

La révélation s'effectue au bout de 48 heures, on laisse 24 heures à la température ambiante puis on place une nuit le bac au frigidaire 4°.

On effectue une première lecture des lames puis on baigne les lames dans une solution de citrate trisodique à 50% pendant une heure (afin d'éliminer par dissolution l'arc non spécifique "protéine C substance C" dû à la substance C qui est présente dans l'antigène et à la protéine C qui peut être dans le sérum du malade).

Les lames sont ensuite lavées à l'eau physiologique 8,5 g. pour 1 litre pendant trois jours consécutifs. La déminéralisation est effectuée au papier Watmann n° 1 (3 fois).

La coloration est obtenue par l'amido-schwarz.

c- Résultats

1°- Dans la Bilharziose à Schistosoma mansoni

L'Ecole de Lille observe la présence de protéine anti C dans tous les sérums étudiés. La réaction d'Ouchterlony met en évidence de 2 à 8 arcs de précipitation et l'analyse immunoélectrophorétique de l'antigène Schistosoma mansoni par ces sérums met en évidence de 1 à 9 arcs de précipitation.

Il existe une corrélation entre le nombre d'arcs précipitants et le gradient clinique de l'infection.

Le nombre d'arcs est supérieur dans les formes hépato-spléniques que dans les formes hépato-intestinales.

Les précipitines ne sont mises en évidence que chez 80% des malades bilharziens.

2°- Dans la Bilharziose urinaire à Schistosoma haematobium

L'antigène utilisé est un extrait de vers adultes de Schistosoma mansoni.

La réaction met en évidence des précipitines chez 60% des malades porteurs d'une Bilharziose urinaire.

La majorité des réactions positives s'exprime par un ou deux arcs de précipitation, le maximum observé dans 8% des cas étant de 4 arcs.

La protéine anti C s'est révélée présente dans 75% des cas. L'immunoélectrophorèse est moins sensible que la réaction d'Ouchterlony lorsque le taux de précipitines est faible, mais elle est généralement plus analytique lorsque ce taux s'élève.

Les résultats sont supérieurs lorsque l'antigène utilisé est Schistosoma haematobium.

Cette méthode est positive chez 80% des malades porteurs d'une Bilharziose urinaire.

3°- Dans la Bilharziose à Schistosoma japonicum

Il existe une importante différence dans les résultats si la réaction est effectuée avec de l'antigène de Schistosoma mansoni ou de Schistosoma japonicum. La parenté antigénique de ces deux espèces est très limitée.

Avec l'extrait somatique de Schistosoma japonicum, 2 à 6 arcs de précipitation sont révélés.

CONCLUSION

Le manque de sensibilité des techniques actuelles d'immuno-diffusion ne permet pas de leur accorder une place prépondérante (60% pour la Bilharziose à Schistosoma mansoni, 80% pour la Bilharziose à Schistosoma haematobium).

La valeur analytique de l'immunoélectrophorèse s'objective surtout par la mise en évidence dans les cas positifs de 1 à 11 arcs de précipitation dans la Bilharziose à Schistosoma mansoni ; de 1 à 6 arcs de précipitation dans la Bilharziose à Schistosoma haematobium. La démonstration dans chacune des espèces incriminées de l'existence d'une ou plusieurs fractions spécifiques qui permettent le diagnostic précis de l'agent causal. L'analyse comparée des extraits antigéniques des stades adultes et larvaires de Schistosoma mansoni, conduit à recommander l'utilisation de l'antigène

cercarien dans les infestations récentes et celle de l'extrait antigénique ovulaire et adulte dans les infections chroniques.

Mais leur mise en oeuvre délicate rend difficile leur emploi hors des laboratoires de parasitologie très spécialisés. Ce sont de grosses consommatrices d'antigène difficiles à récolter. Cependant leur rôle est capital dans l'étude expérimentale et analytique de la maladie ainsi d'ailleurs qu'en parasitologie générale où elles ont permis à BIGUET, CAPRON et Coll..., de renouveler la conception des rapports entre hôtes et parasites ainsi que certains aspects de la classification et des affinités entre parasites d'espèces, de genre ou de classes différentes.

E - REACTIONS UTILISANT UN ANTIGENE FIGURE

1- LA REACTION DE PRECIPITATION CIRCUM OVALE

Historique

Dès 1954, OLIVER-GONZALES constata que l'incubation à 37° C d'oeufs embryonnés de *Schistosoma mansoni* dans les sérums de sujets parasités faisant apparaître en 2 à 24 heures, autour de la coque des précipités hyalins, globuleux ou digitiformes, souvent plissés.

En 1955, OLIVER-GONZALES, BAUMAN et BENENSON observaient que la réaction ne s'opérait, dans les immuns sérums, qu'autour des oeufs appartenant à l'espèce infestante, ce qui conférait à ce test une grande spécificité.

Principe

Le principe consiste à mettre en contact des oeufs de *Schistosoma* vivants avec des sérums immuns, et d'observer au microscope les modifications périphériques de l'oeuf.

Technique

Une suspension de 20 à 30 oeufs en solution saline à 1,70% (donc à hypertonicité élevée pour éviter leurs éclosions) est déposée sur une lame avec 0,05 ml. de sérum à étudier. On recouvre d'une lamelle et la préparation est lutée à la paraffine. Elle est déposée pendant 24 heures à l'étuve à 37°.

La lecture au microscope détermine le pourcentage d'oeufs vivants montrant des précipités ainsi que le nombre et la longueur moyenne des digitations. Les trois éléments permettent d'apprécier le degré de positivité des réactions. La longueur des digitations est proportionnelle au nombre d'oeufs. L.C. BRUMPT, A. BUTTNER et M.L. DUCASSE ont codifié la cotation des positivités en +, ++ et +++.

Intérêts - Résultats

Cette réaction est spécifique ; ne peut être réalisée que sur des oeufs vivants correspondant à l'espèce en cause. Si le miracidium éclos dans le sérum, la réaction apparaît autour de la coque qu'il vient de quitter. Quelques réactions croisées entre oeufs de Schistosoma mansoni et de Schistosoma haematobium ont pu être observées, mais dans tous les cas les positivités étaient plus intenses avec l'espèce homologue qu'avec les espèces voisines.

C'est une réaction d'apparition tardive, elle ne devient positive qu'avec l'apparition des premiers oeufs dans les selles, c'est-à-dire 2 mois environ après l'infestation. On a pu observer qu'elle restait en rapport constant avec la ponte des bilharzies femelles. Elle permet donc de contrôler l'évolution post-thérapeutique. Sa négativation est donc très lente (7 à 12 mois) et lorsque la négativité est atteinte, elle est un excellent critère de guérison.

Conclusion

C'est une réaction fidèle mais nécessite la présence d'oeufs vivants débarrassés de souillures. C'est un matériel difficile à obtenir au laboratoire surtout de façon courante et répétée.

2- LA REACTION D'AGGLUTINATION DES CERCAIRES

La réaction d'agglutination des cercaires a été étudiée par LIU Ch'ien et F.B. BANG en 1960.

Elle consiste à mettre en présence des cercaires vivantes, et un immun-sérum.

Technique

Les cercaires de Schistosoma mansoni sortent de planorbes infestés dès lors que la température atteint 28° C. On tente cette éclosion une fois par semaine. Les larves sont rassemblées dans un récipient à long col dont seule la partie supérieure est vivement éclairée : c'est là que se trouvent les cercaires au bout de 2 à 3 heures.

Une suspension concentrée de cercaires est obtenue par centrifugation de la solution initiale pendant 1 minute à 1000 tours/minute.

On ajoute à cette concentration un volume égal de solution saline hypertonique. Pour cette réaction il est nécessaire d'avoir 300 à 400 cercaires par ml. Le sérum est décomplémenté à 56°C pendant 30 minutes. Une série de dilution est effectuée avec le sérum, et on met dans un tube à essai 0,5 ml. de la suspension saline de cercaires avec 0,5 ml. de sérum dilué. On agite pendant 30 secondes et on laisse à la température du laboratoire pendant une heure.

L'agglutination est désignée suivant son intensité par les signes +, ++, +++.

Résultat

Des études expérimentales ont permis de montrer que cette réaction est positive à partir de 1 mois et demi, 2 mois après l'infestation. Il n'existe pas de réactions croisées avec les autres helminthiases. Cette réaction se négative à la phase chronique de l'infestation.

Au Total

La réaction d'agglutination des cercaires nécessite un matériel vivant, en nombre important. C'est pour cette raison que cette réaction ne

peut être pratiquée couramment. Elle doit correspondre au degré maximum d'une réaction de Vogel et, en pratique, quelques sérums testés au Vogel et très positifs donnent, par ci par là, des agglutinations. Mais en principe, ces aspects ne sont pas retenus comme significatifs.

3 - REACTION D'IMMOBILISATION DES MIRACIDIUMS

C'est SENTERFIT qui en 1953 préconisa cette méthode.

Elle consiste à mettre en présence des miracidiums et un sérum contenant des anticorps bilharziens.

Cette réaction est positive à partir du 2ème mois de l'infestation.

Les miracidiums sont obtenus à partir des oeufs de Schistosoma mansoni provenant de hamsters infestés expérimentalement.

Les miracidiums sont obtenus de broyats de foie d'animaux infestés, mis en présence d'eau douce qui fait éclore les oeufs. On se sert du phototropisme des miracidiums pour les concentrer en surface de l'eau d'un récipient de verre violemment éclairé à sa partie supérieure. Différentes dilutions des sérums sont étudiées. On met en contact 5 gouttes de suspension de Miracidium pour 5 gouttes de sérum dans un puits de paraffine sur une lame.

La lecture se fait au microscope. Les cils vibratils sont totalement ou partiellement immobilisés.

Cette réaction est encore au stade expérimental, trop de facteurs sont susceptibles de provoquer le même phénomène pour que ces tests puissent être utilisés à des fins diagnostiques.

De plus, tous les laboratoires ne peuvent pas produire à la demande des miracidiums pour effectuer les examens réclamés par les cliniciens.

4- LA REACTION DE VOGEL- MINNING

HISTORIQUE

En 1936, CULBERTSON, TUBAUGUI et MASILUNGAN montrent la présence dans certains sérums d'un facteur cercaricide qui pourrait être détruit par la chaleur à 56° pendant une demi-heure.

En 1948, PAPIRMEISTER et BANG décrivent l'apparition d'un précipité autour de la cercaire placée dans du sérum immun, le facteur sérique responsable existe dans le sérum frais mais disparaît par chauffage à 56° pendant une demi-heure.

En 1949, VOGEL et MINNING décrivent la "Cercarien-Hüllen Réaction". Il s'agit de la formation d'une membrane autour du corps et de la queue de cercaires placées dans du sérum de singes infestés par les Schistosomes, puis de sérums de malades bilharziens. Le chauffage du sérum ne fait pas disparaître ce phénomène.

En 1951 MAYER et PIFANO montrent que le test est positif chez 80% de leurs malades bilharziens.

En 1955 STIMEVALT et EVANS complètent la description du phénomène de VOGEL et MINNING. Ils rattachent au même facteur sérique le phénomène d'agglutination des cercaires et le gonflement de la membrane. Ils notent que la maturité des vers ou la production des oeufs ne sont pas nécessaires à l'apparition de la C.H.R.

La même année, KAGAN constate que les bilharzioses à tous les stades de leur évolution font apparaître le facteur inducteur de cette membrane et en 1958, PIFANO et RON PETRIQUE constatent la positivité de cette réaction avant l'apparition des oeufs dans les selles, avant la positivation de l'I.D.R.

Principe

Le principe consiste à mettre en contact les sérums des malades et des cercaires vivantes pendant 24 heures et d'observer au microscope les formations et les modifications de la membrane péri-cercarienne.

Technique

Elle nécessite la présence d'une souche de Schistosoma mansoni entretenue au laboratoire.

Les cercaires proviennent de Planorbes (Australorbis glabratus) infestés expérimentalement et soumis à une "éclosion" artificielle une fois par semaine.

Un vermicelle de vaseline est déposé à la seringue sur une lame porte-objet pour délimiter un carré de 20 millimètres de côté. Un petit volume d'une suspension de cercaires vivantes, à raison d'une dizaine de gouttes est mise dans la cavité ainsi formée avec le sérum. On inactive le sérum à 56° C. Il semble que cette précaution évite les agglutinations indésirables des cercaires. On recouvre d'une lamelle et on laisse la préparation à 20°C. La réaction s'amorce en 1 à 4 heures ; elle est complète le jour suivant. La réaction se lit sous un faible grossissement. H. PICOT a décrit les modifications subies par la cercaire (Thèse médecine 1961).

Le décollement de la membrane débute à l'extrémité postérieure de la queue qui se recroqueville peu à peu et gagne de proche en proche la jonction du corps et de la queue. Au niveau du corps le phénomène se passe de la même manière, mais plus tardivement ; la membrane après s'être épaissie se gonfle et se plisse. Au bout de 2 ou 3 heures la cercaire est encore faiblement mobile, elle est rétractée surtout au niveau de la partie caudale, à l'intérieur d'une membrane sinueuse, rigide, limitée par un double contour. Vingt quatre heures plus tard, la cercaire est mourante ou morte.

Dans les réactions plus faiblement positives, il ne se forme qu'une membrane d'épaisseur variable au niveau du corps.

La positivité des réactions s'évalue selon la largeur et l'étendue de la membrane péricercarienne formée ; elle est cotée par les signes +, ++, +++.

Résultats - Intérêts

C'est une réaction fidèle pour 70% des sérums de bilharziens testés. La spécificité est relative : en effet, le complexe antigénique est commun à plusieurs espèces de Schistosomes, ceux de l'homme et de certains animaux. Mais sa positivité est précoce, 3 semaines avant l'apparition des oeufs de Schistosoma mansoni dans les selles. Elle n'est fidèle que chez les sujets primo-infestés, les réinfestations ; un certain degré de prémunition peuvent en altérer le mécanisme.

Conclusion

C'est une réaction simple mais qui réclame des cercaires vivantes. Comme toutes les réactions citées, qui utilisent du matériel vivant, elle est réservée à des laboratoires spécialisés.

5 - LA REACTION D'IMMUNOFLUORESCENCE

Historique

Les premières réactions d'immunofluorescence appliquées à la Bilharziose furent pratiquées en 1960 par SADUM, WILLIAMS et ANDERSON sur des miracidiums ou des cercaires soumis à une contre coloration par l'Albumine-Bovine-Rhodamine. Ces réactions présentaient de nombreux inconvénients. Les manipulations en tube provoquaient un allongement considérable de la réaction, un gaspillage important du matériel parasitaire.

En 1965 CARMACO, HOSHINO, CAETANO DA SILVA préconisèrent une réaction sur lames, préparées à partir de broyats de schistosomes adultes. La même année MAGALHAES, FILHO KRUPP et MALEK employèrent des coupes à la congélation d'organes parasites.

En 1966, AMBROISE-THOMAS et M.A. POTHIER codifièrent une méthode pour mettre en évidence les Anticorps anti-schistosomes par immunofluorescence.

Principe

L'antigène figuré est constitué par des coupes à la congélation de fécès de souris parasités par des Schistosomas mansoni adultes ; chacune des coupes doit présenter quelques sections de vers.

La souche de Schistosoma mansoni est entretenue au laboratoire, l'hôte intermédiaire est l'Australorbis glabratus, l'hôte définitif est la Souris blanche.

On fait réagir successivement le sérum à dilution croissante, puis après lavage un conjugué fluorescent anti γ globulines humaines. La lecture est effectuée au microscope avec éclairage ultra-violet.

Si le sérum est positif, dans un premier temps, les anticorps bilharziens se seront fixés sur l'anticorps figuré, dans le second temps, les anti-immuno-globulines fluorescentes se fixent sur les anticorps sériques déjà en place et visualisent la première réaction.

Une réaction positive se manifestera par la luminescence verte de fragments d'helminthes. Une réaction négative restera sombre.

Technique (Suivant l'Ecole de LYON).

- 1°- Les lames sont conservées au congélateur à $- 20^{\circ}\text{C}$. Au moment de l'emploi elles sont sorties et laissées pour séchage à la température ordinaire. Un numéro d'ordre est gravé sur chaque préparation.
- 2°- Les préparations sont fixées et délipidées pendant 10 minutes dans un bain d'acétone redistillée à la température du laboratoire.
- 3°- Chaque sérum considéré est dilué à 1/10, 1/20, 1/40, 1/30, 1/160, 1/320 ... dans du tampon phosphate isotonique à $\text{Ph} = 7,2$
- 4°- Chaque dilution du sérum est appliquée sur un étalement, puis les lames sont placées pendant une demi-heure à l'étuve à 37° en atmosphère humide.
- 5°- Deux lavages successifs de 5 minutes en bains de tampon à $\text{Ph} 7,2$, puis les lames sont séchées.
- 6°- Action du conjugué fluorescent

Un conjugué anti- γ -globulines humaines fluorescentes de l'Institut Pasteur est employé dilué au 1/20ème.
Le conjugué est réparti à raison de 2 à 3 gouttes sur chaque coupe.
Puis les préparations sont placées une demi-heure à l'étuve à 37° .
- 7°- Deux lavages successifs de 5 minutes dans le tampon $\text{Ph} 7,2$
- 8°- On plonge les préparations dans un bain de bleu d'Evans à 1/10000 dans du tampon pendant 10 minutes à la température du laboratoire.
- 9°- Deux lavages successifs de 5 minutes dans la solution tampon.
- 10°- Les préparations sont examinées au microscope en lumière ultra-violette ; le fond de la préparation est rouge brique sous l'influence du Bleu Evans

qui atténuent toutes les fluorescences spontanées parasites

Les coupes de vers apparaissent jaune-vert lumineux lorsque le sérum est positif pour la dilution correspondante.

On ne tient pas compte de la fluorescence jaune-vert spontanée des organes génitaux et de la coque des oeufs - les coupes de vers de coloration rouge brique ou mieux verdâtre mais éteinte sont déclarées négatives.

11- Pour chaque série d'examens il est nécessaire de prévoir un témoin négatif et un témoin positif. Il faut s'assurer que le nouveau conjugué fluorescent est de bonne qualité et ne crée pas de fausses fluorescences.

Intérêt de cette méthode

Elle permet une économie importante de matériel parasitaire puisqu'un seul foie de souris parasité permet de faire des centaines de coupes et donc d'étudier de très nombreux sérums.

Elle nécessite la présence au laboratoire d'un microscope à lumière ultra-violette et d'un cryostat.

Les manipulations sont faciles et rapides et les coupes à congélation peuvent être préparées plusieurs semaines ou mois d'avance à la seule condition d'être conservées à -20°C.

Au-dessus de la dilution à 1/20 c'est une réaction spécifique. Il n'existe pas de réactions croisées en particulier avec les Treponématoses, la Trichinose et surtout le Kyste hydatique et la Distomatose (AMBROISE-THOMAS et M.A. POTHIER).

C'est une réaction très sensible mais il existe des différences qualitatives et surtout quantitatives selon que les sérums proviennent d'un malade infesté par Schistosoma mansoni ou Schistosoma haematobium et d'un plus large degré s'il s'agit de Schistosoma intercalatum et Schistosoma japonicum.

Evolution sérologique post-thérapeutique

Le traitement actuel des Bilharzioses est l'"Ambilhar" (1). Il se

(1) CIBA

donne à la dose de 1 comprimé par 20 kg. de poids pendant 7 jours.

Le traitement entraîne, pour la Bilharziose intestinale comme pour la Bilharziose urinaire une brusque élévation du taux des anticorps circulants. Un taux maxima apparaît entre le 1er et le 3ème mois, il est environ 4 fois supérieur au titre moyen initial.

Les taux maxima observés par cette méthode dans la Bilharziose à Schistosoma mansoni sont toujours plus élevés que les titres observés au même moment dans les infections à Schistosoma hematobium.

A partir du 3ème mois, on assiste à une diminution régulière des anticorps. On pourra considérer la guérison comme acquise si après un temps d'attente suffisant, le taux des anticorps est supérieur au taux initial.

Conclusion

Cette méthode semble satisfaisante. Elle est d'une spécificité élevée, elle est bon marché et facilement réalisable, permettrait des enquêtes épidémiologiques. Elle permet de suivre l'évolution post-thérapeutique. Un seul inconvénient, la lecture est laissée à l'entière appréciation de l'opérateur

Elle pourrait être appliquée en dehors des laboratoires parasitologiques spécialisés. En effet, la présence d'un microscope à ultra-violet est maintenant courante dans un laboratoire de biologie. L'antigène pourrait être constitué de coupes lyophilisées de foie de souris contenant des Schistosoma mansoni.

CONCLUSION

Nous venons d'étudier les différentes réactions immunologiques pouvant être appliquées au diagnostic de la Bilharziose.

Aucune de ces méthodes ne peut être effectuée en dehors d'un laboratoire de parasitologie très spécialisé sauf le test intradermique (commercialisé par l'Institut Pasteur de Paris). Mais nous avons vu pour quelles raisons ce test est faiblement et non constamment positif chez les malades bilharziens en dehors des zones d'endémie.

Pour toutes les autres réactions, il n'existe pas d'antigène commercialisé, donc leur exécution est réservée à des laboratoires disposant de l'infrastructure indispensable à la fabrication de celui-ci.

Pour fabriquer de l'antigène, il faut des vers adultes de Schistosoma mansoni donc entretenir une souche au laboratoire. L'élevage des planorbes impose la possession d'aquariums chauffés et éclairés, et une surveillance attentive quotidienne. La souris est l'hôte définitif, mais le nombre total de schistosomes la parasitant est faible. Il faut au minimum 100 mg. de vers adultes pour avoir un bon antigène (soit une dizaine de souris parasitées). Dans un laboratoire chaque phase du cycle est une étape difficile.

La réaction de fixation du complément est sensible, simple à réaliser. Elle s'est avérée positive durant la période d'infestation. Mais il n'existe aucun antigène commercialisé.

Le test au latex est d'exécution facile. Il est moins sensible que la réaction de fixation du complément, mais comme celle-ci, il n'existe pas d'antigène commercialisé.

L'immunoélectrophorèse est un excellent moyen d'expérimentation. Elle ne peut être appliquée quotidiennement. C'est une technique d'une longue durée (plusieurs jours) et qui consomme beaucoup d'antigène. Son prix de revient est pour cela inhibitif. Sa sensibilité s'est avérée inférieure par ailleurs à la réaction d'immunofluorescence. Tous ces faits ne permettent pas de lui accorder une place prépondérante.

Nous éliminerons la réaction d'agglutination des cercaires et la réaction d'immobilisation des miracidiums, qui ne sont encore qu'à un stade expérimental.

La réaction de précipitation circum-ovale est fidèle, elle est la seule à posséder une spécificité étroite. Mais le matériel qu'elle nécessite (œufs vivants débarrassés de souillures) est difficile à obtenir de façon courante et répétée.

Le test de Vogel-Minning fut longtemps la réaction la plus utilisée. C'est une réaction fidèle, très sensible. Son seul inconvénient est de réclamer des cercaires vivantes.

La réaction d'immunofluorescence est la plus récente. Elle semble satisfaisante. Elle utilise un antigène figuré, mais celui-ci est constitué de coupes de foie de souris parasitées par Schistosoma mansoni (un foie permet de faire une centaine de coupes). Elle nécessite la présence d'un microscope à rayons ultra-violets. Sa technique est simple, elle est facilement réalisable, et elle est bon marché. Elle est de plus d'une spécificité élevée, identique au test de Vogel-Minning.

Seules trois réactions donnent des renseignements d'ordre quantitatifs : la réaction de fixation du complément, les tests d'agglutination et l'immuno-fluorescence.

Quelle que soit la réaction immunologique effectuée, nous ne devons pas oublier que ces résultats doivent toujours être interprétés dans un contexte clinique.

Vu le Président de Thèse

Y.J. GOLVAN

Vu le Doyen de la Faculté

G. BROUET

Vu et Permis d'Imprimer
Le Recteur de l'Académie de Paris

Robert MALLET

BIBLIOGRAPHIE

- 1- ALCAY L., MARILL P. et MUSSO J. - 1939
Les réactions de floculation au cours de la Bilharziose humaine.
Bull.Soc.Path.Exot., (32), VIII, 836-842.

- 2- AMBROISE-THOMAS P. - 1969
Etude séro-immunologique de dix parasitoses par les techniques d'immunofluorescence.
Thèse Sciences - LYON.

- 3- ANDERSON R.I., et NAIMARK D.H. - 1960
Le diagnostic sérologique des infestations par "Schistosoma mansoni".
II. Sensibilité des réactions intradermiques et sérologiques chez des sujets porteurs certains de Bilharzioses à schistosomes.
Am.J.Trop.Med., (9), VI, 600-603.

- 4- ANDERSON R.I., SADUN E.HH., WILLIAMS J.S. - 1961
A technique for use of minute amounts of dried blood in the fluorescent antibody test for schistosomiasis.
Exp.Parasit. II, 111-116.

- 5- BAZIN J.C. - 1967
Les progrès récents du diagnostic immunologique en parasitologie.
La Vie Médicale (48), 1633-1637.

- 6- BENEX J., CORVAZIER R., COUDURIER J. et LAMY L. - 1967.
Où va le vent ?
Immex, V, 531-542.

- 7- BENEX J. I.P. Paris
Technique du test d'agglutination au latex pour le diagnostic de certaines parasitoses.

- 8- BIGUET J., CAPRON A. et TRAN VAN KY P. - 1968
Le diagnostic immunologique des parasitoses.
Lille Médical, (15), 5-12.

- 9- BIGUET J., CAPRON A. et TRAN VAN KY P. - 1962
Les antigènes de *Fasciola hepatica*. Etude électrophorétique et immunoélectrophorétique. Identification des fractions et comparaison avec des antigènes correspondants à 7 autres helminthes.
Ann.Parasit.Hum.Comp., (37), 224-235.
- 10- BIGUET J., CAPRON A. et TRAN VAN KY P. - 1962.
Les antigènes de *Schistosoma mansoni*. Etude électrophorétique et immunoélectrophorétique. Caractérisation des antigènes spécifiques.
Ann.Instit.Pasteur, (103), 763-777.
- 11- BLAIR D.M. - 1965
Methods of diagnostic of bilharziasis.
Bull.O.M.S. (15), 240-242.
- 12- BRANDT L.J. et FINCH E.P. - 1946.
A simple flocculation slide test for the diagnosis of schistosomiasis
Am.J.Clin.Path., (16), 141-152.
- 13- BRUMPT L.C. et Coll. - 1961
Le test de Vogel-Minning dans le diagnostic des Bilharzioses.
Ann.Biol.Cli. (19), I et II, 29-35.
- 14- BRUMPT L.C., BUTTNER A. et DUCASSE M.L. - 1962.
Dédutions biologiques diagnostiques et cliniques concernant deux tests sérologiques des schistosomes, le "Circumoval Precipitin Test" et la "Cercaria Hullen Reaction".
C.R.Soc.Bio., (46), 1779-1785.
- 15- BRUMPT L.C., BUTTNER A., et PICOT H. - 1961.
Le test de Vogel-Minning dans le diagnostic des bilharzioses.
Ann.Bio.Clin., (19), 29-31.
- 16- BRUMPT E. - 1949
Schistosoma.
Précis.Parasitol., I, 654-705.
- 17- CAPRON A., BIGUET J., ROSE F., VERNES A. - 1965.
Les antigènes de *Schistosoma mansoni*. II - Etudes immunoélectrophorétiques comparées des divers stades larvaires et des adultes des deux sexes. Aspects

immunologiques des relations hôte-parasite de la cercaire et de l'adulte de *Schistosoma mansoni*.

Ann.Inst.Past. (109), 798-810.

- 18 - CAPRON A., DEBLOCK S., BIGUET J. - 1965.

Contribution à l'étude expérimentale de la Bilharziose à *Schistosoma mansoni*

Bull.O.M.S. (32), 755-778.

- 19 - CAPRON A., VERNES A., BIGUET J., ROSE F., CLAY A. et ADENIS L., 1966

Les précipitines sériques dans la Bilharziose humaine et expérimentale.

Ann.Parasit.Hum.Comp. (41), 123-187.

- 20 - CAPRON A. et BRYGOO E.R. - 1959

Sur la constitution des oeufs d'helminthes. I- Présence et formation d'une substance acido-alcool-résistante de la coque.

Bull.Soc.Path.Exot. (52), 574-577.

- 21 - CAPRON A. et BRIGOO E.R. - 1960.

Mise en évidence de la formation de la substance acido-alcool résistante de la coque de *Schistosoma mansoni*.

Arch.Inst.Past. de Madagascar (28), 153-155.

- 22 - CAPRON A., VERNES A., BIGUET J. et TRAN VAN KY P. - 1967

Apport de l'Immunoélectrophorèse à l'étude immunologique des Bilharzioses (essai de synthèse).

Ann.Soc.Belge.Med.Trop. (42), 127-142.

- 23 - CHAFFEE E.F. et NIEVES E.R. - 1957

Le séro-diagnostic de la schistosomiase : spécificité du test de fixation du complément dans d'autres affections helminthiques.

Am.J.Trop.Med. (6), IV, 727-730.

- 24 - CHAFFEE E.F., BAUMAN P.M. et SHAPILO J.J. - 1954.

Le diagnostic de la schistosomiase par la fixation du complément.

Am.J.Trop.Med. (3), V, 905-913.

- 25 - COUDERT J. - 1961

Utilisation des antigènes lyophilisés pour le diagnostic des maladies parasitaires.

Ann.Biol.Clin. (12), 1-9.

- 26 - COUDERT J., GARIN J.P., AMBROISE-THOMAS P. et POTHIER M.A. - 1967.
Diagnostic sérologique de la Bilharziose par immunofluorescence sur coupes à congélation de *Schistosoma mansoni*.
Ann.Parasit.Hum.Comp. (42), V, 483-492.
- 27 - COUDERT J. et COLY M. - 1956
Essai d'application de la réaction d'agglutination des particules de collodion à quelques parasitoses.
Ann.Parasit.Hum.Comp., (31), 489-499.
- 28- COOKSON L.O.C. - 1964
Some modifications of the fluorescent antibody test in human bilharziasis.
Bull.O.M.S., (31), 799-813.
- 29 - DUCASSE M.L. et PICOT H. - 1964
Diagnostic biologique des bilharzioses
Rev.Sci.Med., (162), 46-54.
- 30 - ETTORI D., - 1963
Le diagnostic immunologique dans les bilharzioses
Lyon.Med., n° 28-82-86.
- 31 - FAIRLAY, WILLIAMS. - 1927
A preliminary report on an intradermal reaction in schistosomiasis.
M.J.Australia. II, 811-818.
- 32 - FASQUELLE R., BARBIER P., DAGUET G., et GOULLET P., - 1965
Eléments d'immunologie générale. MASSON
- 33 - FILHO A.M., KRUPP I.M. et MALEK E.A. - 1965
Localisation de l'antigène et présence des anticorps dans les tissus de souris infestées par *Schistosoma mansoni*, indiquée par la technique des anticorps fluorescents.
Am.J.Trop.Med.Hyg., (14), I, 84-99, 5 tabl., 20 fig.
- 34 - FUGINAMI A. et NAKAMURA H. - 1909.
Shistosomum japonicum
Kyoto Igakai Zasshi VI.
- 35 - HOUIN R. - 1969
Les procédés modernes du diagnostic biologique en parasitologie.
Vie.Med., (30), 3613-3620.

- 36 - KAGAN I.G., PELLEGRINO J. et MEMORIA J.M.P. - 1961
Etudes sur la standardisation d'un test intradermique pour le diagnostic de la Bilharziose.
Am.J.Trop.Med., (10), n° 2, 200-207.
- 37 - KAGAN I.J., KAISER R.L. et KENT N. - 1966
Comparaison de *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma japonicum* et *Trichinelle* sp. *spiralis* comme antigènes dans les cutanés chez des sujets infestés par *Schistosoma mansoni* et *haematobium*.
Am.J.Med.Hyg., 5, (15), n°5, 719-724, 6 tabl.
- 38 - KAGAN I.J. - 1955
L'hémoagglutination après immunisation par les antigènes des schistosomes.
Science (122), n° 3165, 376-377.
- 39 - KAGAN I.J. et OLIVER-GONZALES - 1958
Hemagglutination studies with schistosome antigens.
J.Parasito., (44), 457-460.
- 40 - LANCASTRE F. - 1967.
Diagnostic et traitement actuel des Bilharzioses
Vie.Med., (48), 1555-1562.
- 41 - LEBAS J. - 1924
A note of the employment of *Fasciola hepatica* as an antigen for the serum diagnosis of bilharziasis.
Proc.Roy.Soc.Med. (17), 6-8.
- 42 - LE FICHOUX Y. - 1969.
Etude de 388 dossiers d'une consultation de Médecine Tropicale. Aspects cliniques, biologiques et thérapeutiques des Anguilluloses et des Bilharzioses observées.
Thèse Médecine Paris.
- 43 - LIU' Ien and BANG F.B. - 1950
Agglutination of cercariae of *Schistosoma mansoni* by immune serum.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med., 74, 68-72.
- 44 - MERKLEN F.P. et BERTHEAUX P.
Immunologie générale et immunologie médicale.
Les monographies médicales et scientifiques - Paris.

- 45 - MOREAU J. - 1963
Thèse Médecine Paris
- 46 - OLIVER - GONZALEZ J. - 1967
Notre connaissance de l'immunité à la schistosomiase
Am.J.Trop.Med.Hyg., (16), n° 5, 565-567.
- 47 - OLIVER-GONZALEZ J., DAUMAN P.M. et BENENSON A.S. - 1955.
Aspects immunologiques des infections à *Schistosoma mansoni*. Discussion.
Am.J.Trop.Med., (4), n° 3, 443-454.
- 48 - OLIVER-GONZALEZ J. et COKER C.M. - 1955
Les réactions sérologiques aux antigènes d'oeufs adjuvants de l'évaluation
du traitement de la schistosomiase.
Am.J.Trop.Med., (4), n° 5, 908-912.
- 49 - PAUTRIZEL R., TRIBOULEY J. et TRIBOULEY-DURET J. - 1965.
Diagnostic immunologique des Bilharzioses
Poumon et Coeur, (21), n° 4, 397-403.
- 50 - PAUTRIZEL R., TRIBOULEY J. et DURET J. - 1963.
Diagnostic sérologique de la Bilharziose à *Schistosoma mansoni* à l'aide d'une
réaction de fixation du complément utilisant un antigène délipidé.
Ann.Inst.Past., (104), 502-510.
- 51 - PAUTRIZEL R., TRIBOULEY J., SCERNOVICZ F. et DURET J. - 1964.
Application de la réaction de congutination au diagnostic des Bilharzioses
Ann.Inst.Past., (107), 863-872.
- 52 - PELLEGRINO J. - 1958
The intra-dermal test in diagnosis of bilharziasis.
Bull.O.M.S., (18), 945-961.
- 53 - PELLEGRINO J. et PEDREIRA de FREITAS J.L., 1961.
Test quantitatif de fixation du complément dans la Bilharziose.
Am.J.Trop.Med., (10), n° 4, 537-540.
- 54 - PICOT H. - 1961.
Contribution à l'étude de la réaction de Vogel-Minning dans le diagnostic
de la Bilharziose.
Thèse Médecine Paris.

- 55 - PIFANO C.F. et RON PETRIQUE M. - 1959.

La cercaria reaction de Vögel y Minning en el diagnostico de la Schistosomiasis mansoni.

Arch. Venez.Patol. Trop. Parasit. Med., (3), 185-192.

- 56 - RIEBER S., ANDERSON R.I. et RADKE M.G. - 1961.

Le diagnostic sérologique des infestations à Schistosoma mansoni.

III. Isolement et purification de l'antigène de Schistosoma adulte en vue du test de fixation du complément.

Am. J. Trop. Med. (10), n° 3, 351-355.

- 57 - RIVERA de SALA A., MENENDEZ-CORRADA R. et RODRIGUEZ-MOLINA R. - 1962 .

Detection of circumoval precipitins by fliorescent-antibody tecnic.

Proc. Soc. Exp. Med. III, 212-215.

- 58 - SADUN E.H., LIN S.S. et WILLIAMS J.E. - 1958.

Etudes sur les rapports hôte-parasite de Schistosoma japonicum.

I - Modifications quantitatives de la concentration des protéines sériques chez l'homme et le lapin.

Am. J. Trop. Med., (7), n°5, 494-499.

- 59 - SADUN E.H., WILLIAMS J.S. et ANDERSON R.I. - 1960.

Une technique utilisant les anticorps fluorescents pour le diagnostic de la schistosomiase chez l'homme.

Proc. Soc. Exper. Biol. Med., (105), n°2, 289-291.

- 60 - SENTERFIT L.B. - 1953.

Immobilization of Schistosoma mansoni miracidia by immun serum.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., (84), 5-7.

- 61 - THIODET J., FOURRIER A. et BUTTORI P.L. - 1960.

Bilharzioses.

E.M.C.

- 62 - VERNES A. - 1965.

Les précipitines sériques dans les bilharzioses humaines et expérimentales.

Thèse médecine - Lille.

- 63 - VOGEL H. et MINNING W. - 1949.

Hüllenbildung bei Bilharzia-Cercarien in Serum Bilhazia-infizierter
Tiere und Menschen.

Zentbl. F. Bakteriolog., (153), 91-105.

- 64 - WRIGHT W.H., BOZICEVICH J., BRADY F.J. et BAUMAN P.M. - 1947.

The diagnosis of schistosomiasis japonica : the intradermol test
and serological tests.

Am. J. Hyg., (45), 150-163.

- 65 - YOKOGAWA M., SANO M. et ARAKI K. - 1967.

Immunodiagnosis of Shistosomiasis japonica : III. Circumoval pre-
cipitation test.

Jap. J. Parasit. (16), 77-84.

